

# JP8053351

Publication Title:

ENZYME-INHIBITING AGENT, ARTERIALIZATION-INHIBITING AGENT, AND CANCER METASTASIS-INHIBITING AGENT

Abstract:

Abstract of JP8053351

PURPOSE:To obtain the subject medicine containing docosahexaenoic acid (derivative) as an active ingredient, exhibiting excellent enzyme-inhibiting, arterialization-inhibiting and cancer metastasis-inhibiting activities, and useful for inhibiting the cancer metastasis, etc. CONSTITUTION:This medicine contains docosahexaenoic acid (derivative) [e.g. docosahexaenoic acid, its salt, ester, glyceride, its phospholipid derivative, choline compound thereof or ascorbate thereof] as an active ingredient. The medicine is prepared in the form of preparations such as powder, granules, capsules, tablets, syrup and elixir in the case of oral administration agents and in the form of injections in the case of parenteral administration agents. The docosahexaenoic acid (derivative) is compounded in an amount of 1-90wt.%, especially 10-80wt.%, in the preparations. The medicine is preferably administered in a daily dose of 0.1-5g, especially 1-2.5g for an adult based on the amount of active ingredient. Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

---

Courtesy of <http://v3.espacenet.com>

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平8-53351

(43)公開日 平成8年(1996)2月27日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	府内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/20	A E D	9455-4C		
31/23	A D S	9455-4C		
	A D U			
C 0 7 C 57/03		9450-4H		

審査請求 未請求 請求項の数3 F D (全4頁)

(21)出願番号 特願平6-209321

(22)出願日 平成6年(1994)8月11日

(71)出願人 000173762

財団法人相模中央化学研究所

神奈川県相模原市西大沼4丁目4番1号

(71)出願人 594148209

青柳 高明

神奈川県藤沢市本鵠沼3-3-6

(72)発明者 矢澤 一良

神奈川県相模原市鶴野森1-28-10

(72)発明者 青柳 高明

神奈川県藤沢市本鵠沼3-3-6

(54)【発明の名称】 酵素阻害剤、血管新生抑制剤、および癌転移抑制剤

(57)【要約】

【目的】 酵素阻害活性あるいは血管新生抑制活性を有する、新しい癌転移抑制剤を提供する。

【構成】 ドコサヘキサエン酸および／またはその誘導体を有効成分とする酵素阻害剤、血管新生抑制剤、および癌転移抑制剤。

【効果】 ドコサヘキサエン酸およびその誘導体は酵素を阻害し、血管新生を抑制し、酵素阻害剤、血管新生抑制剤、ひいては癌転移抑制剤として有効に用いることができる。

1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ドコサヘキサエン酸および／またはその誘導体を有効成分とする酵素阻害剤。

【請求項2】 ドコサヘキサエン酸および／またはその誘導体を有効成分とする血管新生抑制剤。

【請求項3】 ドコサヘキサエン酸および／またはその誘導体を有効成分とする癌転移抑制剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、ドコサヘキサエン酸および／またはその誘導体を有効成分とすることを特徴とする酵素阻害剤、血管新生抑制剤および癌転移抑制剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 わが国において、成人病による死亡者のうち、癌を原因とする死亡者の割合は年々増加する傾向にある。癌の治療法および転移メカニズムに関する研究は近年急激な進歩を遂げているが、画期的な治療法は未だ発見されておらず、化学療法剤を用いた治療でも十分な効果は得られていない。癌による死亡のほとんどは転移が原因であり、転移抑制が癌死亡者を減少させる良策であると考えられる。従来、オボスタチン、マトリスタチン、アプロチニン等が癌転移抑制剤として知られているが、その効果は未だ不十分なものであった。

【0003】 一方、ドコサヘキサエン酸(DHA)は脳や網膜等の興奮性膜に多く含まれているn-3系の不飽和脂肪酸であり、記憶、学習能の改善、視力低下抑制、抗腫瘍作用、免疫抑制作用等の薬理作用があるとされている。DHAを多く含む魚油にもマクロファージの活性を抑制したり(Dustin L. B., et al., J. IMMUNOL, 144, 488-4897 (1990))、LTB<sub>4</sub>、LTC<sub>4</sub>の產生抑制(Lokesh B. R., et al., Biochem Biophys Acta, 958, 99-107, (1988))、TNFの產生を抑止しするという報告(Endres S., et al., N. Eng. J. Med., 320, 265-271, (1989))があり、臓器移植においてCYAと併用すると免疫抑制効果が増強されるとの報告(Kelley V. E., et al., Transplantation, 48, 98-102, (1989))がある。しかしながら、酵素阻害作用あるいは血管新生抑制作用、さらには癌転移抑制作用についての報告はない。

## 【0004】

【発明が解決しようとする課題】 癌転移は多段階よりも非常に複雑な現象であり、癌細胞の原発巣からの離脱、血管内への侵入、血管内皮細胞への接着、血管基底膜の破壊、そして細胞外マトリックスへの浸潤、増殖という過程をとる。これらの過程には種々の酵素が関与しており、それらの阻害物質が新しい癌転移抑制剤として注目されている。また、癌細胞は、その特徴である異常増殖を発現する上で必要な栄養および酵素の供給、あるいは代謝老廃物の排泄を行うため、血管新生を誘導する。それ故、血管新生を阻害するものには癌細胞の増殖(MIF, PIF, C-raf等)の抑制剤(soft agent等)や粘膜投与剤(軟膏、貼付剤等)などの

2

殖を抑制し、癌の転移を抑制しうる。

## 【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明者等は、新たな癌転移抑制剤を開発すべく鋭意研究した結果、ドコサヘキサエン酸および／またはその誘導体が、酵素を阻害し、また、血管の新生を抑制することを見いだし、本発明を完成するに至った。

【0006】 すなわち本発明は、ドコサヘキサエン酸および／またはその誘導体を有効成分とする酵素阻害剤を提供する。また本発明は、ドコサヘキサエン酸および／またはその誘導体を有効成分とする血管新生抑制剤を提供する。さらに本発明は、ドコサヘキサエン酸および／またはその誘導体を有効成分とする癌転移抑制剤を提供する。

【0007】 本発明に用いるドコサヘキサエン酸およびその誘導体(以下、DHA類という)とは、遊離酸(すなわちDHA)をはじめ、その塩(例えば、ナトリウム塩、カリウム塩、カルシウム塩、アンモニウム塩)、エステル(例えば、メチルエステル、エチルエステル、ブロピルエステル)、グリセリド(モノー、ジー、トリ-)、リン脂質、コリン化合物、アスコルビン酸化合物、アミノ酸化合物等を意味する。ドコサヘキサエン酸は、イワシ、サバ、アジ、サケ、サンマなどの青背魚より抽出した魚油、マグロやカツオなどの大型海産魚の眼窩脂肪由来の魚油、微生物や海草由来の油脂、オキアミ油、タラやイカ肝臓より抽出した海産物由来の油脂などから、公知の方法にしたがって単離精製して得られる。

【0008】 DHAの毒性は弱く、例えばそのエチルエ斯特ルをマウスに2000mg/kg経口投与しても毒性の徵候は何ら見られなかった。

【0009】 これらDHA類の投与量は、対象疾患の種類、患者の年齢、性別、体重、症状、あるいは投与形態により異なるが、一般には、成人一日あたり約0.1～5g、好ましくは1～2.5gであり、1回あるいは数回に分けて投与するのが適当である。

【0010】 本発明の薬剤は治療のために経口的あるいは非経口的に投与することができる。経口投与剤としては散剤、顆粒剤、カプセル剤、錠剤などの固形製剤あるいはシロップ剤、エリキシル剤などの液状製剤とすることができる。また、非経口投与剤として注射剤とすることができます。

【0011】 これらの製剤は活性成分に薬理学的、製剤学的に認容される製造助剤を加えることにより常法に従って製造される。更に公知の技術により持続性製剤とすることも可能である。当該製造助剤を用いる場合は、DHA類(遊離酸として)の配合量は通常は1～90重量%、好ましくは10～80重量%である。

【0012】 上記製造助剤としては、内服用製剤(経口剤)、注射用製剤(注射剤)、粘膜投与剤(バッカル、外用剤(軟膏、貼付剤等)などの

投与経路に応じた適当な製剤用成分から使用される。

【0013】例えば、経口剤および粘膜投与剤にあっては、賦形剤（例：澱粉、乳糖、結晶セルロース、乳糖カルシウム、メタケイ酸アルミニウムマグネシウム、無水ケイ酸）、崩壊剤（例：カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム）、滑沢剤（例：ステアリン酸マグネシウム、タルク）、コーティング剤（例：ヒドロキシエチルセルロース、白糖、ヒドロキシプロピルセルロース、ポリビニルビロリドン、トウモロコシ蛋白）、着味剤などの製剤用成分が使用される。

【0014】顆粒剤を製造するには湿式又は乾式造粒し、錠剤を製造するにはこれらの散剤及び顆粒剤をそのままあるいはステアリン酸マグネシウム、タルクなどの滑沢剤を加えて打錠すればよい。これらの顆粒又は錠剤はヒドロキシプロピルメチルセルロースフタレート、メタアクリル酸、メタアクリル酸メチルコポリマーなどの腸溶性基剤で被覆して腸溶性製剤、あるいはエチルセルロース、カルナウバロウ、硬化油などで被覆して持続性製剤とすることもできる。また、カプセル剤を製造するには散剤又は顆粒剤を硬カプセルに充填するか、活性成分をグリセリン、ポリエチレンジリコール、ゴマ油、オリーブ油などに溶解したのちゼラチン膜で被覆し軟カプセル剤とすることができます。カプセル剤の場合には、内容物として、DHA類が100重量%であってもよい。

【0015】経口投与用の液状製剤を製造するには活性成分と白糖、ソルビトール、グリセリンなどの甘味剤とを水に溶解して透明なシロップ剤、更に精油、エタノールなどを加えてエリキシル剤とするか、アラビアゴム、トラガント、ポリソルベート80、カルボキシメチルセルロースナトリウムなどを加えて乳剤又は懸濁剤としてもよい。これらの液状製剤には所望により着味剤、着色剤、保存剤などを加えてよい。

【0016】また注射剤にあっては、水性注射剤を構成し得る溶解剤ないし溶解補助剤（例：注射用蒸留水、生理食塩水、プロピレングリコール）、懸濁化剤（例：ポリソルベート80などの界面活性剤）、pH調整剤（例：有機酸またはその金属塩）、安定剤などの製剤用成分が使用される。注射剤を製造するには活性成分を必要に応じ塩酸、水酸化ナトリウム、乳剤、乳酸ナトリウム、リン酸一水素ナトリウム、リン酸二水素ナトリウムなどのpH調整剤、塩化ナトリウム、ブドウ糖などの等張化剤とともに注射用蒸留水に溶解し、無菌濾過してアンプルに充填するか、更にマンニトール、デキストリン、シクロデキストリン、ゼラチンなどを加えて真空下凍結乾燥し、用時溶解型の注射剤としてもよいし、活性成分にレシチン、ポリソルベート80、ポリオキシエチレン硬化ヒマシ油などを加えて水中で乳化せしめ注射用乳剤とすることもできる。

【0017】その他、上記構成を有する本発明の薬剤は、公知の製造法、例えば日本薬局方版製剤総則Mi60、PCTP: <http://www.wipo.int/pctdb/>、阻害効果の判定及び写真撮

記載の方法ないし適当な改良を加えた方法によっても製造することができる。

【0018】以下、本発明を実施例により詳細に説明する。

#### 【0019】 【実施例】

##### 実施例1. 酵素阻害活性試験

多価不飽和脂肪酸〔(DHA, エイコサペンタエン酸(EPA), エイコサテトラエン酸(ETA)の各々エチルエステル〕は、投与前2週間F1-フィッシュミールで飼育した SPF-Balb/c AnNCrl マウス(6周令、雄)に、50mg/kg/日/1回を5%アラビアゴム水溶液に溶かし、ゾンデで10日間経口投与した。最終投与24時間後に麻酔下に屠殺し、脾臓を摘出した。摘出した脾臓は冷PBS(リン酸緩衝液、phosphate buffered saline)でヒストコロン(日音医理科器械製作所、東京)を用いホモジナイズした。3,000gで20分間遠心分離したのち、その上清の酵素活性を測定した。

##### 【0020】

##### 【表1】

表1. 脾臓酵素活性試験結果

	比活性 (%)	
	EPA	DHA
AP-N	9.4	8.3***
カリクレイン	9.4*	8.6***
GlcNAc-a se	8.5***	7.2***

注: \* P<0.05, \*\* P<0.01,

\*\*\* P<0.001

【0021】このように、DHAはEPAに比べてより強い酵素阻害活性を示した。

##### 【0022】実施例2. 血管新生抑制活性

##### コリオアラントイック メンブラン (Chorioallantoic membrane CAM) 法

受精3日目の鶏卵の上部と側面を70%エタノールで消毒した。次にキリで上部と側面に各1ヶ所づつ穴を開け、側面の穴より約2ml卵白を吸引除去し、上部の穴よりスポットを用いて空気を少量抜いた。側面の穴はオプサイト(Smith & Nephew Medical Limited, USA)を貼って塞ぎ、続いてドラフト内で上部の殻を剥ぎ、テフロン製キャップをして37°Cで1日培養した。その後CAM上にシリコン製キャップを置き、そのリング内に1%メチルセルロース含有生理食塩水に懸濁した試料10μlを注入した。各群6個づつの卵を使用した。さらに、2日間、37°Cで培養した後、殻を大きく開け、CAM内

影を行った。

【0023】

【表2】表2. 多価不飽和脂肪酸の血管新生抑制試験

試料	投与量	阻害率(%) <sup>2)</sup>	効果 <sup>3)</sup>
DHA	0.2mg/CAM	66.7	2.5
EPA	0.2mg/CAM	50.0	1.5
ETA	0.2mg/CAM	33.3	1.0

【0024】1) 各々エチルエステル体を投与

2) 血管新生が阻害された卵の全体に対する百分率を表

す。

3) 血管新生の阻害の強さを-, -, +, ++, +++の5段階で評価し、各々に0, 1, 2, 3, 4の得点を与え、その積算値をn数で除した値を表す。

【0025】この結果、DHAがEPAやETAに比べて有意に血管の新生を抑制することが判明した。

【0026】

【発明の効果】ドコサヘキサエン酸およびその誘導体は酵素を阻害し、血管新生を抑制する。従って、ドコサヘキサエン酸および/またはその誘導体は、酵素阻害剤、血管新生抑制剤、ひいては癌転移抑制剤として有効に用いることができる。